

赖草的种间和属间杂种胚胎培养研究*

伍碧华 孙根楼

(四川农业大学小麦研究所, 都江堰市 611830)

摘要 以小麦族赖草属植物的 6 个种: 赖草(*Leymus secalinus*)、窄颖赖草(*L. angustus*)、单小穗赖草(*L. aemulans*)、多枝赖草(*L. multicaulis*)、大赖草(*L. racemosus*)和天山赖草(*L. tianshanicus*)作试验材料, 分别组配成 5 个种间杂交组合, 并与新麦草属(*Psathyrostachys*)、鹅观草属(*Roegneria*)以及 *Thinopyrum* 属组配成 9 个属间杂交组合。应用胚胎培养技术, 离体培养杂种胚胎, 成功地拯救了赖草植物的种间和属间杂种。试验结果表明, 杂种胚胎的胚龄、培养基的营养组成以及杂种基因型对离体胚胎的培养有明显影响。

关键词 赖草、种间和属间杂种、胚胎培养

STUDY ON EMBRYO CULTURE OF INTERSPECIFIC AND INTERGENERIC HYBRIDS FROM GENUS LEYMUS

WU Bi-Hua, SUN Gen-Lou

(Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan, Sichuan 611830)

Abstract The embryo culture was studied on interspecific and intergeneric hybrids from Genus *Leymus* species. The six species which were involved in this experiment were *L. secalinus*, *L. angustus*, *L. aemulans*, *L. multicaulis*, *L. racemosus*, and *L. tianshanicus*. Five interspecific crosses were formed from them, and ten intergeneric crosses were also formed from five of them with *Psathyrostachys*, *Roegneria* and *Thinopyrum* species. Their hybrid embryos were cultured *in vitro* by the means of embryo culture, and the interspecific and intergeneric hybrids were successfully rescued. The experimental results showed that embryo age of the hybrid embryos, nutrient composition of media, and hybrid genotypes existed obvious influences on frequencies of seedling formed from hybrid embryos.

Key words *Leymus*, Interspecific and intergeneric hybrid, Embryo culture

赖草是小麦族中 1 个多年生属, 从北海岸到中亚、东亚及阿拉斯加、北美均有分布, 常生长在盐碱地和干旱半干旱的山坡、地埂, 具有很强的适应性和抗病性, 其中有许多种是优良的牧草。一些研究者应用远缘杂交和植物组织培养技术相结合的方法, 相继合成了小麦与赖草属一些种的属间杂种后代, 并获得了高抗小麦多种病害和高蛋白以及大穗大粒的杂种植株^[1,2]。可见, 赖草属的优良遗传特性对改良遗传物质日趋贫乏的麦类作物具有重要意义。因此, 了解赖草属植物的生物学特性、细胞遗传学特性以及它们的系统发育关系十分有必要, 从而为麦类作物和牧草优良品种的选育提供可靠的理论指导。

远缘杂交是进行植物遗传学、育种学和进化研究的重要途径之一，已成为植物育种取得突破性进展的关键环节之一。然而，由于远缘杂交亲本之间的不亲和性等诸多因素，导致远缘杂种胚胎过早败育，成了远缘杂交工作的主要障碍之一。离体胚胎培养技术的应用，已成功地拯救了许多植物的远缘杂种^[2-6]，成为人工创造新物种的重要生物技术。但是，胚胎拯救技术在植物远缘杂交中的应用，还存在着许多值得探讨的问题^[2,7]。因此，为了保证赖草植物的生物学特性、细胞遗传学特性、以及它们系统发育关系等基础研究及其在作物改良中应用研究的顺利进行，本试验将专门研究赖草属植物远缘杂种胚胎培养的影响因素。现将结果报道如下。

材料和方法

杂交所用的材料采自各地，种植在四川农业大学小麦研究所。其杂交亲本及其倍性水平、基本染色体组和来源见表 1 所示。常规去雄、套袋，授粉后从 12 天起，以后分别以不同的时间间隔剪取穗子，取出种子用 75%酒精浸泡 1 min，转入 0.1%的 HgCl₂ 溶液中表面灭菌 12 min，无菌水冲洗 4 次，在解剖镜下剥取胚胎，接种于培养基上培养。培养温度白天为 23±1℃，夜间为 20±1℃，每日人工照光 12 h，光强度为 2000 lx。

采用 N6 基本培养基，分别添加酵母提取物 (YE)、水解乳蛋白 (LH)、谷氨酰胺 (Glu)、谷氨酸 (Gln)、激动素 (KT)、生长素 (IAA) 以及蔗糖 (sucrose)。用 0.4%的琼脂粉固化培养基，培养基 pH 调至 6.0。

表 1 试验亲本材料
Table 1 Materials tested in this experiment

种 名 Species	倍性 Ploidy	基本染色体组 Basic genome	来 源 Origin
赖草 <i>Leymus secalinus</i>	X	N X	新疆富海县 Xinjiang fuhaxian
窄颖赖草 <i>L. angustus</i>	12X	N _m X _n	新疆乌鲁木齐 Xinjiang Wulumuqi
单穗赖草 <i>L. aemulans</i>	4X	N X	新疆赛里木湖 Xinjiang Sailimuhu
多枝赖草 <i>L. multicaulis</i>	4X	N X	新疆哈巴河 Xinjiang Habahe
大赖草 <i>L. racemosus</i>	4X	N X	新疆阿尔泰 Xinjiang Aertai
天山赖草 <i>L. tianshanicus</i>	10X	N?? X?	新疆天山 Xinjiang Tianshan
华山新麦草 <i>Psathyrostachys huashanica</i>	2X	N	陕西华山 Shanxi Huashan
新麦草 <i>P. juncea</i>	2X	N	新疆特勒克 Xinjiang Teleke
纤毛鹅观草 <i>Roegneria ciliaris</i>	4X	S Y	四川宜宾 Sichuan Yibin
<i>Thinopyrum elongata</i>	2X	J	U.S.A.

由于植物远缘杂交结实率极低，有许多植物的属、种间杂交甚至不结实，而且杂种籽粒内并非都形成了胚胎^[2,3,6]；同时，杂种胚胎在母株上保持活力的能力还与不同的杂交组合有关，从而使能供培养研究的胚胎数极为有限，因此，试验中各分组试验（表 2,3,4）的杂交组合数不相等，而且不同杂交组合的参试胚龄及其培养基种类各不相同。

结果与分析

1. 胚龄（天）对杂种胚胎培养的影响

胚龄与离体胚胎萌发的关系 · 从表 2 可见，不同胚龄的离体胚胎从接种至开始萌发的时间具有明显差异。3 个种间杂种和 3 个属间杂种均表现为随着胚龄（胚胎在母株上发育的天数）的逐渐延长，胚胎开始萌发所需的天数逐渐减少。说明杂种胚胎发育越好、胚器官分化越完全，萌发启动越快。

胚龄与成苗率的关系 本试验分别以不同时间间隔的 3 个种间杂种和 3 个属间杂种为研究对象, 研究胚龄对成苗率的影响。培养结果 (表 2) 的总趋势表明, 不同胚龄的杂种胚胎成苗率显著不同。例如, 种间杂交组合 *L. angustus* × *L. aemulans* 12 日龄的胚胎较 14 日龄的胚胎成苗率明显地低 (即 $0.0 < 20.0\%$); 而其余 5 个远缘杂交组合大于 14 日龄以上的胚胎成苗率均明显低于 14 日龄的胚胎成苗率。可见, “14 日龄”是赖草远缘杂种胚胎营救培养的适宜时期。

表 2 胚龄对杂种胚胎萌发的影响

Table 2 Influence of embryo age on hybrid embryo germination

杂种类型 Hybrid type	杂交组合 Cross	胚龄 Embryo age (d)	接种数 No. of inoculation	始萌天数 Days of beginning germination	成苗数 (%) No. of seedling (%)
种间杂种 Interspecific hybrid	<i>L. angustus</i>	12	5	/	0 (0.0)
	× <i>L. aemulans</i>	14	5	12	1 (20.0)
	<i>L. multicaulis</i>	14	7	5	3 (42.3)
	× <i>L. aemulans</i>	18	6	3	2 (33.3)
	<i>L. secalinus</i>	14	8	9	8 (100.0)
	× <i>L. aemulans</i>	17	8	7	6 (75.0)
		19	10	5	2 (20.0)
属间杂种 Intergeneric hybrid	<i>L. aemulans</i>	14	8	15	4 (50.0)
	× <i>P. huashanica</i>	15	8	12	0 (0.0)
	<i>L. secalinus</i>	14	25	5	21 (84.0)
	× <i>P. huashanica</i>	22	20	2	8 (40.0)
	<i>T. elongata</i>	14	8	10	2 (25.0)
	× <i>L. secalinus</i>	17	7	9	3 (42.9)
		22	8	8	4 (50.0)

2. 培养基对杂种胚胎培养的影响

从表 3 可见, 12 日龄的种间杂交组合 *L. tianshanicus* × *L. angustus* 和 *L. tianshanicus* × *L. racemosus* 的未成熟胚, 在培养基“Ⅰ”、“Ⅱ”上培养后, 成苗率均表现为培养基“Ⅱ”显著高于培养基“Ⅰ” (即 $75.0\% > 37.5\%$ 和 $12.5\% > 0.0\%$); 而 14 日龄的属间杂交组合 *L. secalinus* × *P. huashanica* 和 19 日龄的种间杂交组合 *L. secalinus* × *L. aemulans*, 以及 22 日龄的属间杂交组合 *T. elongata* × *L. secalinus* 的胚胎在培养基“Ⅰ”和“Ⅱ”上没有明显差异。可见, 培养基对杂种胚胎培养的影响因杂种胚胎的发育程度而异。同时, 14 日龄的属间杂交组合 *L. secalinus* × *P. huashanica* 的幼胚在只有基本培养基成分和蔗糖的“Ⅲ”培养基上, 成苗率高达 100%, 显著高于培养基“Ⅰ”和“Ⅱ” (即 $100\% > 80.0\%$ 和 83.3%), 说明, “14 日龄”的杂种胚胎已发育到相对成熟的水平。此外, 已经发育到 19 日龄的近成熟胚胎, 甚至 22 日龄的成熟胚胎, 在无任何营养物质的“Ⅳ” (CK) 培养基上一直没有萌动, 而在培养基“Ⅰ”、“Ⅱ”上均能程度不同地萌发成苗, 可见, 即使成熟的杂种胚胎萌发成苗也需要补给一定的营养物质。

表 3 培养基对杂种胚胎培养的效应 (除“IV”外, 均含有 6% 的蔗糖; 单位均为“mg/L”)

Table 3 Effects of medium on hybrid embryo germination (The other media were supplemented sucrose at 6% except “IV”; and all the units were “mg/L”)

杂交组合 Cross	胚龄(天) Embryo age (d)	培养基 Medium	接种数 No. of inoculation	成苗数 (%) No. of seedling (%)
L. tianshanicus × L. angustus	12	I. N ₆ +YE100+LH100+Glu500+KT0.5	8	3 (37.5)
		II. N ₆ +Gln500+IAA1.0	8	6 (75.0)
L. tianshanicus × L. racemosus	12	I. N ₆ +YE100+LH100+Glu500+KT0.5	13	0 (0.0)
		II. N ₆ +Gln500+IAA1.0	8	1 (12.5)
L. secalinus × P. huashanica	14	I. N ₆ +YE100+LH100+Glu500+KT0.5	10	8 (80.0)
		II. N ₆ +Gln500+IAA1.0	12	10 (83.3)
		III. N ₆	10	10 (100.0)
L. secalinus × L. aemulans	19	I. N ₆ +YE100+LH100+Glu500+KT0.5	11	3 (27.3)
		II. N ₆ +Gln500+IAA1.0	10	2 (20.0)
		IV(CK). 只有 0.4% 的琼脂	10	0 (0.0)
		There was only agar at 0.4% in IV.		
T. elongata × L. secalinus	22	I. N ₆ +YE100+LH100+Glu500+KT0.5	9	5 (55.6)
		II. N ₆ +Gln500+IAA1.0	8	4 (50.0)
		IV(CK). 只有 0.4% 的琼脂	10	0 (0.0)
		There was only agar at 0.4% in IV.		

表 4 不同杂交组合的杂种胚胎培养结果

Table 4 Culture result of hybrid embryos from different crosses

胚龄(天) Embryo age (d)	培养基 Medium	杂交组合 Cross	接种数 No. of inoculation	始萌天数 Days of beginning germination	成苗数 (%) No. of seedling (%)
12	II	1. L. tianshanicus × P. huashanica	12	/	0 (0.0)
		2. L. tianshanicus × L. racemosus	8	12	1 (12.5)
		3. L. tianshanicus × L. angustus	8	11	6 (75.0)
14	II	4. L. tianshanicus × P. juncea	10	23	0 (0.0)
		3. L. tianshanicus × L. angustus	8	11	1 (12.5)
		5. L. secalinus × L. aemulans	8	9	8 (100.0)
15	I	6. L. aemulans × P. huashanica	12	12	0 (0.0)
		7. R. ciliaris × L. angustus	8	4	2 (25.0)
		8. L. secalinus × P. huashanica	7	5	6 (85.7)
17	II	9. T. elongata × L. secalinus	7	10	3 (42.9)
		5. L. secalinus × L. aemulans	8	7	6 (75.0)
18	I	10. L. secalinus × P. juncea	8	8	2 (25.0)
		11. L. multicaulis × L. aemulans	6	3	2 (33.3)
22	I	12. L. multicaulis × P. juncea	6	5	2 (33.3)
		13. L. multicaulis × P. huashanica	8	5	3 (37.5)
		8. L. secalinus × P. huashanica	6	2	4 (66.7)

3. 杂种基因型对胚胎培养的影响

本试验分别用 3 个发育阶段的杂种胚胎: 12、14、15 日龄的幼胚类, 17、18 日龄的近成熟胚类和 22 日龄的成熟胚类 (共 6 个胚龄), 研究赖草的不同远缘杂交组合之间胚胎培养的差异性。结果表明, 各个发育阶段的不同杂交组合之间、杂种胚胎开始萌芽的天数和成苗的百分率均显著不同 (详见表 4)。可见, 赖草远缘杂种的不同遗传背景对杂种胚胎的离体培养有较大的影响。

讨 论

1. 胚龄对杂种胚胎培养的影响

Tilton 和 Russell 认为, 胚胎发育从球形到心形期的转变, 是离体胚胎培养时的一个天然转效点^[8]。因此, 离体培养适宜发育期的胚胎能明显地增加培养的成功率。然而, 对于远缘的种、属间杂种胚胎来说, “适宜胚龄”又具有自身的特殊性。因为远缘杂种胚胎受到双亲遗传的、生理的不亲和性的影响, 胚胎与胚乳之间的发育不协调, 致使胚胎在母株上不能发育到离体培养时成功率最高的适宜胚龄^[9]时已退化夭亡。如普通小麦与沙生冰草和根茎冰草的属间杂种幼胚在授粉后 13 天已无法解剖了^[3], 而 *Agropyron* 与小麦的杂种在授粉后 10 天就停止了发育^[6]。因此“适宜胚龄”在植物远缘杂种胚胎培养中的涵义应该具有双重性: 一个方面的涵义是杂交授粉后, 胚胎在母株上发育到退化死亡前具有最高活力的年龄, 另一个方面的涵义是离体培养时成功率最高的胚胎年龄。对于基因型纯合的种、品种 (系) 的胚胎^[9]来说, 不存在第一个方面的问题, 而且很容易满足第二个方面的要求; 但对远缘杂种胚胎来说, 往往很难满足第二个方面的要求, 因为更多的是要拯救发育早期就退化的杂种胚胎^[2,3,6], 而这种类型的幼胚离体培养的难度往往较大。由于不同的杂交组合之间, 甚至相同的杂交组合的正反交之间; 以及不同地理条件下, 杂种在母株上能维持活力的天数有显著差异^[3,6,10]。所以, 对于远缘杂种胚胎来说, 应该以第一方面的涵义为前提, 在具体的地理、气候、营养水平以及杂交的植物种类等条件下, 自授粉之日起, 经常观察杂种的发育状况, 在胚胎拯救中以培养成功率最高为目标分别处理。同时也说明对具体植物的远缘杂种胚胎培养的胚龄进行具体研究的必要性。

本试验中, 小麦族赖草属植物的属间、种间杂种胚胎的胚龄对离体培养下胚胎的萌发时间及成苗率具有明显的影响, 与以往的研究一致^[2,3,9]。从萌发时间来看, 胚龄越长, 胚器官分化越完全, 胚胎萌发就越快 (表 2), 这与李立会的结果^[3]一致, 成苗率最高的胚龄为授粉后 14 日龄的胚 (表 3), 这与戎均康等的结果^[9]一致, “14 日龄”也是在大多数成功的麦类植物远缘杂种胚胎拯救培养中应用较多的胚龄^[11]。此外, 从表 2 和表 3 可以看出, 赖草植物的属间和种间杂种胚胎大多数可以发育到 14 天以上, 甚至成熟 (22 天), 这与马缘生等获得能在田间播种发芽的中国赖草与普通小麦杂种的结果^[10]具有相似性, 但与张学勇等在培养普通小麦与毛穗赖草 (*L. paboanus*) 的杂种幼胚中的结果^[1]有些出入, 尽管如此, 普通小麦与毛穗赖草 (*L. paboanus*) 的杂种幼胚仍可发育到 12 天以上。因此作者认为, 赖草属植物的远缘杂种胚胎多数可以发育到比较适宜的胚龄期 (14 天左右), 对于赖草在麦类作物品种改良、优质牧草品种选育以及诸如与赖草有关的细胞遗传学、系统学研究中所涉及的远缘杂交来说, 这无疑是一个令人满意的信息。

2. 培养基与杂种胚胎培养的关系

在大多数麦类植物的胚胎培养中, 虽然各个研究者所采用的培养基配方各不相同, 但是, 有关培养基的影响却是肯定的^[1,6,9,12]。Verena cameron-mills 等发现, 谷氨酰胺 (Glu) 与水解酪蛋白 (CH) 结合使用, 能明显地促进大麦胚胎的生长, 而且强调, 在最小原胚的生长中, 谷氨酰胺的补充尤其重要^[12]。Sharma 等在培养冰草与普通小麦授粉后 10—14 天种龄的属间杂种幼胚时发现, 必须向培养基中补充 1.0 mg/L 激动素, 杂种胚胎才能生长、发育和萌发^[6]。同样, Sharma 和 Baenziger 在离体培养

Elymus caninus × 普通小麦 13 日龄的胚胎时发现, 在含有激动素的培养基上拯救胚胎的效果更好^[2]。参照这些研究结果, 本试验用水解乳蛋白 (LH) 代替水解酪蛋白 (CH), 并增加了富含营养成分的酵母提取物 (YE), 组成成营养物质全面而复杂的培养基“Ⅰ”。由于谷氨酸 (Gln) 也具有促进培养胚胎生长的作用^[12], 因此, 本试验设计了营养成分相对简单的培养基“Ⅱ”。结果, 12 日龄的种间杂交组合 *L. tianshanicus* × *L. angustus* 和 *L. tianshanicus* × *L. racemous* 的未成熟胚胎培养的成苗率表现为, 营养成分全面的、复杂的培养基“Ⅰ”, 明显低于营养成分相对简单的培养基“Ⅱ”。产生这种结果的原因, 除与培养基营养成分的搭配和浓度配比是否合理有关外, 可能还与赖草植物远缘杂种胚胎发育的特殊性有关。

以往的研究还表明, 对于相对成熟的胚胎, 可以在加有碳源 (如蔗糖) 和无机盐的简单培养基中生长。本试验中, 14 日龄的属间杂交组合 *L. secalinus* × *P. huashanica* 的幼胚, 在只含有基本培养基成分和蔗糖的“Ⅲ”培养基上培养后, 萌发成苗率高达 100%, 并显著高于培养基“Ⅰ”和“Ⅱ”, 这与 Sharma 等在不含激素的培养基上得到正常的 *Elymus caninus* × 普通小麦的杂种幼胚试管苗类似^[2]。说明 14 日龄的赖草远缘杂种胚胎已达到相对成熟的水平; 同时, 结合种间杂交组合 *L. secalinus* × *L. aemulans* 19 日龄的近成熟胚和属间杂交组合 *T. elongata* × *L. secalinus* 22 日龄的成熟胚培养的成苗率, 在培养基“Ⅰ”和“Ⅱ”上差异不明显的结果, 说明处于相对成熟状态以上的杂种胚胎, 由于胚器官分化良好, 使培养的胚胎对外源物质的依赖性降低。但即使完全成熟的杂种胚胎, 如 22 日龄的 *T. elongata* × *L. secalinus* 属间杂种胚, 在没有基本营养供给的“Ⅳ” (CK) 培养基上, 一直没有萌动, 说明具有完好胚器官的裸露胚胎, 最基本营养物质的供给可能为胚根、胚芽的萌动, 提供了某种启动因子。

3. 基因型对杂种胚胎培养的影响

基因型对离体胚胎培养效果的影响虽然存在分歧, 但多数报道还是肯定的。有关基因型在小麦族植物胚胎培养中的影响已有一些报道^[2,9,13—15]。本试验以小麦族赖草属植物的 6 个种, 组成成不同的种间和属间杂交组合, 通过胚胎的离体营救培养, 结果表明, 各个胚龄 (12, 14, 15, 17, 18 和 22 日龄) 阶段的远缘杂交组合之间, 杂种胚胎开始萌发的天数和成苗率均有明显差异 (表 4), 与多数研究者的报道一致。说明在麦类植物的胚胎培养中, 不论外植体的基因型是纯合的^[9,13,15], 还是杂合的^[2,14], 不论培养途径是脱分化后再再生形成植株^[13—15], 还是直接萌发成籽苗^[2,9], 基因型的影响都是存在的。

参 考 文 献

- [1] 张学勇, 董玉琛, 杨欣明等. 普通小麦 (*Triticum aestivum*) 和毛穗赖草 (*Leymus paboanus*) 的杂交, 杂种细胞无性系的建立及植株再生. 作物学报, 1992, 18(4): 258—263.
- [2] Sharma H C, Baenziger P S. Production, morphology, and cytogenetic analysis of *Elymus caninus* (*Agropyron caninum*) × *Triticum aestivum* F1 hybrids and backcross-1 derivatives. *Theor Appl Genet*, 1986, 71: 750—756.
- [3] 李立会. 普通小麦与沙生冰草、根茎冰草属间杂种的产生及其细胞遗传学研究. 中国农业科学, 1991, 24(6): 1—10.
- [4] Manjeet Singh Gill, Bajaj Y P S. Interspecific hybridization in the genus *Gossypium* through embryo culture. *Euphytica*, 1984, 33: 305—311.
- [5] Sharma H C, Gill B S. New hybrids between *Agropyron* and wheat. 1. *A. ciliare* × wheat and *A. smithii* × wheat. *Wheat Information Service*, 1981, 52: 19—22. [En, 10 ref.] Kans. State Univ., Manhattan, USA.
- [6] Sharma H C, Gill B S. New hybrids between *Agropyron* and Wheat. 2. Production, morphology and cytogenetic analysis of F1 hybrids and backcross derivatives. *Theor Appl Genet*, 1983, 66: 111—121.
- [7] Hadley H H, Openshaw S J. Interspecific and intergeneric hybridization. In: Fehr W R, Hadley H H ed. Hybridization of crop plants. Madison: American Society of Agronomy—Crop Science Society of America, 1980,

133—159.

- [8] Tilton V R, Russell S H. *In vitro* culture of immature soybean embryos. *J Plant Physiol*, 1984, 115:191—200.
- [9] 戎均康, 舒庆尧, 胡适全等. 提高普通大麦离体单倍体胚出苗率的研究. *中国农业科学*, 1991; 24(6): 33—38.
- [10] 马缘生, 谭富娟, 郑先强等. 中国赖草与普通小麦杂交及其后代小-赖麦的研究. 见: 胡含, 王恒立主编: 植物细胞工程与育种. 北京: 北京工业大学出版社, 1990. 200—204.
- [11] 李 璋, 刘翠云, 阎正录等. 普通小麦和栽培大麦杂种植株及其回交后代的产生和鉴定. *遗传学报*, 1987, 14(3): 188—192.
- [12] Verena Cameron-mills, Carol M Duffus. The *in vitro* culture of immature barley embryos on different culture media. *Ann Bot*, 1977, 41: 1117—1127.
- [13] 蔡体树, 田慧琴, 林书康等. 基因型和胚龄对小麦未成熟胚胎离体培养反应的影响. *遗传学报*, 1989, 16(2): 81—88.
- [14] 程增书, 崔海瑞, 方 仁. 小麦与小黑麦杂种幼胚的离体培养. 见: 胡含, 王恒立主编: 植物细胞工程与育种. 北京: 北京工业大学出版社, 1990. 319—322.
- [15] 程增书, 崔海瑞, 方 仁. 基因型和培养基对小麦幼胚离体培养反应的影响. 见: 胡 含, 王恒立主编. 植物细胞工程与育种. 北京: 北京工业大学出版社, 1990. 323—327.

* * * * *

本 刊 启 事

本刊从 1996 年 18 卷起, 参考文献采用“著者-出版年制”。参考文献在文中标注及文末文献表编排的具体格式, 请参见本刊 1995 年 17 卷第 3—4 期封 2—3。请作者投稿时按本刊规定撰写。

《云南植物研究》学报编辑部

1995 年 10 月 15 日